Die Bedingungen

der

Sklerotien- und Sklerotienringbildung von Botrytis cinerea auf künstlichen Nährböden

---

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt

der hohen philosophischen Fakultät

Halle-Wittenberg

von

Wolfgang Reidemeister

gepr. Nahrungsmittelchemiker aus Magdeburg

ACAD
LANDBAU
BIBL.

Halle a. S.

1908

Tag der mündlichen Prüfung: 7. Dezember 1908

Referent: Prof. Dr. Mez

Inhalts-Verzeichnis.

Seite

Einleitung 5

Methodik 8

I. Spezieller Teil:

1. Einfluß der qualitativen Zusammensetzung des Nährbodens 9

2. Einfluß der Quantität der Nährstoffe 12

3. Einfluß der Reaktion 13

4. Einfluß des osmotischen Druckes 15

5. Einfluß der Transpiration 16

6. Einfluß narkotischer Mittel und anderer Gifte 21

7. Verletzung 23

8. Nahrungsentzug und Wachstumshemmung 24

II. Zusammenfassung und Schluß 28

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544709_0084

Die Bedingungen der Sklerotien- und Sklerotienringbildung von Botrytis cinerea auf künstlichen Nährböden.

Wenn man *Botrytis*-Sporen auf einem festen Nährboden aussät, so sieht man, nach Keimung der Sporen, daß sich das Myzel radial fortschreitend ausbreitet, bis es die ganze Kulturschale bedeckt; es kommt dann zur Bildung von Dauerformen, von welchen je nach dem Nährboden Konidien, Sklerotien oder beide auftreten.

Benutzt man zur Kultur Pflaumensaftagar, so macht sich eine auffallende Erscheinung bemerkbar; die entstehenden Sklerotien sind in Ringen angeordnet. An diese Beobachtungen knüpfen meine Untersuchungen an, die ich im Wintersemester 1907/08 und im Sommersemester 1908 im Botanischen Institut der Universität Halle auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. Küster angestellt habe und welche die Sklerotienbildung von *Botrytis cinerea* überhaupt, wie insbesondere ihre Anordnung zu Ringen in ihrer Abhängigkeit von den äußeren Bedingungen nach Möglichkeit klar legen sollten. Herrn Professor Dr. Noll und Herrn Professor Dr. Küster bin ich für ihre Anleitung und Unterstützung sehr zu Dank verpflichtet.

Einleitung.

Die Erscheinung, bestimmte Organe, insbesondere Fortpflanzungsorgane, in ringförmiger Anordnung auszubilden, läßt sich bei den verschiedensten Organismen beobachten. Außer einigen Phanerogamen[1]) sind es vor allem die Pilze und andere ihnen nahe stehende Mikroorganismen, welche die als Hexenringe bekannten Gruppen bilden. Dieser Name wurde vom Volksmunde zuerst einer Erscheinung beigelegt, die sich ab und zu im Walde beobachten läßt; es sind die Fruchtkörper von manchen Basidiomyzeten, z. B. *Spathularia flavida*[1]), welche oft in kreisförmiger Anordnung entstehen und damit zu dieser Bezeichnung Anlaß gegeben haben. Eine ähnliche ringförmige Anordnung von Fruchtträgern läßt sich auch bei *Penicillium* und *Aspergillus*, welche auf wenig geeigneten Nährböden gewachsen sind,

[1]) Kerner, Pflanzenleben II, p. 538.

erkennen. Herrn Professor Dr. Küster verdanke ich die Kenntnis eines zum Formenkreise von *Penicillium glaucum* gehörigen Pilzes, bei welchem die einzelnen Ringe abwechselnd aus den üblichen Konidienträgerrasen und aus Koremien bestehen. Sorauer[1]) u. a. konnten konzentrische Ringe von Konidien bei *Monilia* beobachten. Auch für Myxobakterienfrüchte ist eine ringförmige Anordnung bekannt[2]). Die Lagerung von Sklerotien in Ringform ist neuerdings für *Sclerotinia* von Molz[3]) untersucht worden.

Dieselbe Erscheinung findet sich auch ferner bei vegetativen Zellen.

Die konzentrische Schichtung der Riesenkolonien mancher Hefen, von denen sich gute Abbildungen bei Lindner[4]) finden, ist für manche Hefenrassen spezifisch. Ähnliches kommt bei Bakterien vor. Kerner[5]) berichtet über ringförmiges Wachstum bei manchen Flechten, Hutchinson konnte ein solches bei *Oidium lactis* erzeugen[6]) usw. Bei der Untersuchung leichtkultivierbarer Schimmelpilze und ähnlicher Organismen, die dem im Laboratorium arbeitenden Biologen stets nahe sind, hat man sich nicht mit der Konstatierung der Tatsache begnügt, sondern schon wiederholt die Frage nach den Faktoren, welche die Ringbildung überhaupt veranlassen oder die Weite des Abstandes der Ringe von einander regeln, experimentell behandelt. Diese Frage gewinnt dadurch an Interesse, daß man bei Laboratoriumskulturen oft denselben Organismus bald gleichmäßige Decken und Schichten von Sporen, bald nur Ringe von solchen anlegen sieht. Natürlich hängt wohl die kreisförmige Anordnung der Fruktifikationsorgane mit dem kreiszonenförmigen Fortschritt des Wachstums des Organismus zusammen. Aber warum lokalisiert sich in manchen Fällen die Bildung der Fruktifikationsorgane auf bestimmte Ringstreifen, welche Faktoren sind bestimmend für ihre Lage?

Für die Basidiomyzeten-Hexenringe ist bekannt (vgl. z. B. Noll[7])), daß durch radiales Wachstum des Myzels der Nährboden in der Mitte erschöpft wird, das Myzel alsdann dort abstirbt, und der Pilz sich nur an den peripherischen Stellen zur Bildung von Fruchtkörpern anschickt. Die gleiche Erklärung kann selbstverständlich nicht bei allen derartigen Ringbildungen zutreffend sein; bei dem von uns untersuchten Objekt ist sie es sicherlich nicht, denn hier ist der Pilz im Innern des Ringes, über die ganze Kulturschale hin, lebendig, und nicht abgestorben, wie dies im

[1]) Sorauer, Handb. der Pflanzenkrankheiten Bd. II, p. 281.

[2]) Küster, Kultur der Mikroorganismen, p. 100.

[3]) Molz, Entstehung der durch Sclerotinia fructigena erzeugten Schwarzfäule der Äpfel, Zentralbl. f. Bakt. II 1907, 17, p. 175.

[4]) Lindner, Atlas der mikroskopischen Grundlagen der Gährungskunde.

[5]) Siehe Anmerkung p. 19.

[6]) Hutchinson, Über Form und Bau der Kolonien niedriger Pilze, Zentralbl. f. Bakt. II 1907, 17, p. 417.

[7]) Strasburger, Noll, Schenk, Karsten, Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, Auflage 1905, p. 326.

Innern der Basidiomyzeten-Hexenringe der Fall ist. Die Ringanordnungen verschiedener Pilze sind nur morphologisch ähnlich, dagegen können sie physiologisch die verschiedensten Ursachen haben. Der experimentellen Prüfung sind die leicht kultivierbaren Schimmelpilze zugänglich. Hutchinson setzte *Penicillium* der Einwirkung des Tageslichtes aus und konnte nachweisen, daß die Zonenbildung sowohl in sauerstoffreicher wie armer Luft, aber nur nach Einwirkung des Tageslichtes auftrat; er folgert aus diesen und anderen Versuchen, daß die Ursache zur Zonenbildung in dem Wechsel der Beleuchtung, der Sauerstoffquantität und der Temperatur zu suchen sei. Bei *Oidium lactis* konnte derselbe Verfasser künstlich eine Zonenbildung hervorrufen, indem er die Kulturschale zwei Minuten belichtete. Molz nimmt an, daß die Ringbildung vor allem der Einwirkung des Lichtes zuzuschreiben sei, sei es nun durch direkte Einwirkung oder durch Auslösung physiologischer Vorgänge; so konnte er z. B. nachweisen, daß eine ringförmige Anordnung der Sklerotien nicht eintrat, wenn er bei trüber Witterung die Lage seiner Kultursubstrate wiederholt änderte. Das Auftreten von Konidien-Hexenringen bei *Penicillium* und *Aspergillus* wird besonders deutlich auf ungünstigen Nährböden.

Zusammenfassend kann man sagen, daß für die Ringbildung einmal Licht und Temperatur (Transpiration) verantwortlich gemacht worden sind, andererseits die Fruktifikationsorgane bei schlechter Ernährung auf die Ringform beschränkt werden, anstatt die ganze Kulturschale zu bedecken.

Meine eigenen Versuche bezogen sich auf *Botrytis cinerea*, die auch unter dem Namen *Sclerotinia Fuckeliana* bekannt ist. Dieser Schimmelpilz, welcher eine Rolle als Erreger der Edelfäule spielt[1]), verfügt über zwei Arten, sein Fortbestehen zu sichern. Die gewöhnlichste Weise ist die, Sporen auf Konidienträgern zu bilden; daneben werden aber auch unter gewissen Bedingungen Sklerotien angelegt[2]). Die weitere Entwicklung derselben, ihr Auskeimen usw., interessiert hier weniger und wurde auch nicht in das Bereich der Untersuchungen gezogen.

Wie schon eingangs erwähnt, bildet *Botrytis* auf Pflaumensaftagar Sklerotien in ringförmigen Gruppen. Es ist nicht zu verkennen, daß dieses Verhalten des Pilzes mit den Ernährungsbedingungen zusammenhängt: Kultiviert man denselben Organismus auf einem Nähragar, der Dextrose und Kaliumnitrat in später anzugebenden Mengen enthält, so kommt eine Überfülle von Sklerotien zur Ausbildung, die nirgends etwas von ringförmiger Verteilung erkennen lassen. Es ergibt sich somit die Frage, welche Kombinationen der Kulturbedingungen müssen dem Pilz geboten

---

[1]) Müller-Thurgau, Die Edelfäule der Trauben. Landwirtschaftl. Jahrbuch Bd. 17, p. 83.

[2]) Dieser Zusammenhang zwischen Botrytis und Sklerotinia ist indes nach Lindau (Engler-Prantl I 1 199) noch unsicher.

werden, damit die Sklerotien in Ringform erscheinen, und welche Kombinationen lassen die Sklerotien in gleichmäßiger Verteilung auf der ganzen Oberfläche der Kulturen erscheinen?

Bei der Mitteilung der Resultate wird im ersten Teil von den angewandten Mitteln die Rede und der Stoff nach ihnen anzuordnen sein. Im zweiten zusammenfassenden Teile wollen wir auf die Ergebnisse in der Weise zurückkommen, daß wir sie nach den Reaktionen des Pilzes gruppieren. Nach einem kurzen Überblick über die angewandte Methode werde ich zunächst über die erzielten Ergebnisse durch die verschiedenen Faktoren zu berichten haben, von denen die qualitative Zusammenstellung des Nährbodens, seine Menge, seine Reaktion, seine Konzentration (osmotischer Druck), ferner Transpiration, Licht, Narkose, Vergiftung, Verwundung und Nährstoffentzug geprüft wurden.

Methodik.

Um den gestellten Fragen näher zu treten, wurden vorwiegend feste Nährböden, besonders Agar-, weniger Gelatinenährboden und flüssige Substrate benutzt. Die Nährböden wurden in der Weise hergestellt, daß die organischen und unorganischen Nährstoffe in der entsprechenden Menge Wasser gelöst wurden; der Lösung wurden 2% Agar zugesetzt und letzterer im siedenden Wasserbade in Lösung gebracht; in anderen Fällen wurden auch 2% Agar in der entsprechenden Menge Wasser im Autoklaven bei drei Atmosphären gelöst und darauf die Nährsalze hinzugegeben. Der nachträgliche Zusatz der Salze schien deswegen empfehlenswert, weil besonders Phosphate mit Kalisalpeter bei hoher Temperatur und bei hinreichend hoher Konzentration zu einer Verflüssigung des Agars führen[1]). Pflaumensaftagar wurde stets aus einem Auszuge von 1 kg Pflaumen und 2 l Wasser nach zweitägiger kalter Extraktion unter Zusatz der entsprechenden Menge Agars im Wasserbade hergestellt. Die Sterilisation des in Petrischalen umgefüllten Agars und die Beimpfung erfolgten in der üblichen Weise.

Es ist klar, daß ein ungestörtes radiales gleichmäßiges Ausbreiten des Myzels, wie es Vorbedingung zur Erzielung von Ringbildung ist, nur erreicht werden kann, wenn die Sporen nur an der Stelle, wo sie aufgetragen sind, auskeimen. Falls die Sporen aber durch Preß- oder Kondenswasser verschleppt werden, werden allerhand andere Verteilungen und Wachstumsanordnungen unausbleiblich. Um diesem Übelstande vorzubeugen, wurden die Kulturschalen zunächst nach der Beimpfung einen Tag an einem erschütterungsfreien Orte bis zur Auskeimung der Sporen stehen gelassen; besser bewährte sich die in bakteriologischen Laboratorien vielfach an-

[1]) Reidemeister, Über den Einfluß von Säure- usw. Zusatz auf die Festigkeit des Agars. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie Bd. 25, 1908, p. 42.

gewandte Methode, die Schalen, Deckel nach unten, auseinander zu nehmen, und in dieser Lage an einem vor Staub geschützten Orte abdunsten zu lassen. Hierauf erfolgte die Impfung.

I. Spezieller Teil.

Nachfolgend schildere ich eine Reihe meiner Experimente, geordnet nach den verschiedenen äußeren Faktoren, die auf Sklerotienbildung des von mir untersuchten Pilzes Einfluß hatten.

1. Einfluß der qualitativen Zusammensetzung des Nährbodens.

Die Versuche, welche den Einfluß der qualitativen Zusammensetzung des Nährbodens prüfen sollten, wurden im Winterhalbjahr angestellt. Die Temperatur des Arbeitsraums betrug etwa 20—23° C. Die Kulturen wurden in die Nähe des Fensters gestellt und erhielten kein direktes Sonnenlicht, sondern nur das eines trüben Winterhimmels. Als Nährstoffe bot ich dem Pilz Zuckerarten, Glyzerin oder organische Säuren als Kohlenstoffquelle, Nitrate, Ammonsalze oder Amidoverbindungen als Stickstoffquelle in wechselnden Mengen.

A. Einfluß der Stickstoffquelle.

a) Nitrat.

Auf einem Nährboden von folgender Zusammensetzung

0,5 % Kalisalpeter,
0,2 % Magnesiumsulfat,
0,2 % Monokaliumphosphat,
5 % Dextrose,

werden Sklerotien in sehr großer Anzahl gebildet; auf einer Platte von 5 cm r. zählte ich 594 Sklerotien, so daß auf einen Quadratzentimeter immer etwa 7—8 Sklerotien entfallen. Dabei ist zu bemerken, daß die Größe der Sklerotien verschieden sein kann, und offenbar mehrere einander nahe liegende Sklerotien bei ihrem weiteren Wachstum sich miteinander vereinigen können. Die Sklerotien waren diffus verteilt, zwischen ihnen standen spärliche Konidien. Die Sklerotien zeigten keine besondere Anordnung und waren von kugeliger Form. Auch das Nitrat des Kalzium führt zu einer reichlichen Sklerotienentwicklung. Wurde in dem Nährboden die Dextrose durch 3 % Glyzerin ersetzt, so kam nur eine spärliche Sklerotienbildung — auf einer Kulturschale von 18 cm Durchmesser zählte ich 11 Sklerotien — zustande; dagegen überwogen die Konidien ganz bedeutend und bedeckten die ganze Kulturschale.

Kaliumnitrat (0,5 %) ohne Dextrosegabe führte, wie zu erwarten, nur zu sehr spärlichem Wachstum; es wurden keine Sklerotien gebildet; nur ganz vereinzelt entstanden Konidien. Auf salpetersaurem Ammon (0,5 %)

kombiniert mit Dextrose (5 %) und den üblichen Nährsalzen entstanden ebenfalls keine Sklerotien; die gebildeten Konidienträger waren in Ringform angeordnet unter Freilassung eines mittleren Feldes von 3 cm r., das nur von sterilem Myzel bedeckt war; an den Konidienring schloß sich gleichfalls steriles Myzel an.

b) Ammonsalz.

Chlorammon in einer Gabe von 1 % und Dextrose 5 % veranlaßten nur Konidienbildung, in ähnlicher Weise wie salpetersaures Ammon; auch hier wurde ein Konidienring von 3 cm r. und einer Breite von 1 cm eingeschlossen von sterilem Myzel. Ein Ersatz der Dextrose durch Glyzerin machte das Wachstum noch geringer; es wurden nur wenig Konidien gebildet.

Schwefelsaures Ammon (0,5 %) mit Dextrose (5 %) ergaben nur steriles Myzel ohne Konidien und Sklerotien.

Die Ergebnisse mit salpetersaurem Ammon und Dextrose wurden bereits oben geschildert.

c. Amidoverbindungen.

Asparagin (0,5 %) und Dextrose (5 %) führten zu einem gleichen Ergebnis wie Salpeter (0,5 %): diffuse sehr reichliche Sklerotienbildung mit geringer Konidienbildung. Gleiche Resultate erhielt ich auch, wenn ich anstatt Asparagin Leucin oder Glykokoll verwandte.

d. Stickstofffrei.

Auf Agar, der außer den üblichen Salzen nur Dextrose (5 %) ohne N-gabe enthielt, bildete *Botrytis* Sklerotien in geringer Zahl und wenig Konidien.

Tabelle I.

	Stickstoffquelle als			
	N.	C.	Sklerotien	Konidien
Nitrat	KNO_3 0,5 %	Dextrose 5 %	sehr reichlich diffus	wenig
	$Ca(NO_3)_2$ 0,5 %	„	„	„
	KNO_3 0,5 %	Glyzerin 3 %	spärlich	reichlich
	„	—	—	vereinzelt
	NH_4NO_3 0,5 %	Dextrose 5 %	—	in Ringen
Ammonsalz	NH_4Cl 1 %	„	—	„
	NH_4NO_3 0,5 %	„	—	„
	NH_4Cl 1 %	Glyzerin 3 %	—	wenig
Amidoverbindungen	Asparagin 0,5 %	Dextrose 5 %	sehr reichlich	„
	Leucin 0,5 %	„	reichlich	„
	Glykokoll 0,5 %	„	„	„
N-frei	—	„	spärlich	„

B. Einfluß der Kohlenstoffquelle.

Über die Versuchsergebnisse einer Kombination von Dextrose mit Kaliumnitrat, Ammonitrat, Ammonchlorid und Asparagin wurde soeben berichtet; desgleichen von Glyzerin (3 %) mit Kaliumnitrat und Ammonchlorid.

Rohrzucker (5 %) mit 0,5 % Kaliumnitrat ergab nur Konidienfruktifikation.

Organische Säuren: Auf essigsaurem Ammon (2 %) mit den oben angeführten Salzen kam kein Wachstum zustande; desgleichen nicht auf valeriansaurem Ammon. Ameisensaures Ammon und oxalsaures Ammon, beide in Mengen von 1 %, bewirkten Entwicklung von Myzel, führten jedoch nicht zur Konidienbildung. Auf saurem apfelsaurem und saurem weinsaurem Ammon bildete *Botrytis* Konidien, auf ersterem auch Appressorien. Das neutrale Kaliumsalz der Oxalsäure, ohne Stickstoffquelle gegeben, ergab Wachstum ohne Konidienbildung, das der Weinsäure, ebenfalls ohne Stickstoffgabe, Konidien mit spärlicher Appressorienbildung, zitronensaures Kalium spärliche Konidien.

Tabelle II.

	Kohlenstoffquelle als C.	N.	Sklerotien	Konidien
Monosaccharid	Dextrose	KNO_3, NH_4NO_3 Asparagin	—	s. o.
Disaccharid .	Saccharose 5 %	KNO_3 0,5 %	—	reichlich
Alkohol . . .	Glyzerin 3 %	KNO_3, NH_4Cl	—	s. o.
Org. Säuren .	Ammon acet. 2 %	—	—	kein Wachstum
	„ valerian. 1 %	—	—	„
	„ oxalic 1 %	—	—	Wachstum
	„ formicic. 1 %	—	—	„
	„ tartaric 1 %	—	—	spärlich
	„ bimalic 1 %	—	—	Konidien und Appressorien
	Kal. oxalic 1 %	—	—	geringes Wachstum
	„ tartaric 1 %	—	—	Konidien und Appressorien
	„ citric. 1 %	—	—	gering

Nach diesen Versuchen ist ein Nährboden, der Salpeter, Kaliumnitrat, Asparagin, Glykokoll oder Leucin als Stickstoffquelle und Dextrose als Kohlenstoffquelle in den angegebenen Mengen enthält, zur Bildung von Sklerotien unter normalen Bedingungen hervorragend geeignet. Weniger geeignet sind Kombinationen von Glyzerin mit denselben Stickstoffquellen, ungeeignet Rohrzucker mit Kaliumnitrat und die Ammonsalze organischer Säuren.

C. Nährböden unbekannter Zusammensetzung.

Die Eigentümlichkeit der Anlage der Sklerotien in Ringen wurde, wie bereits erwähnt, beim Pflaumensaftagar zuerst beobachtet. Bei diesem liegt ein Nährboden von sehr wechselnder und in den Einzelheiten noch unbekannter Zusammensetzung vor, so daß die Frage offen bleibt, wodurch d. h. durch den Gehalt an was für einem Stoffe der Pflaumensaftagar in der geschilderten Weise wirksam wird. Wurde *Botrytis* auf Pflaumensaftagar kultiviert, so konnte unter normalen Bedingungen im Winter wie im Sommer[1]) eine Ringbildung beobachtet werden[2]). Die Ringe waren mit einem Radius von 3—3,5 cm angelegt und erreichten eine Breite bis zu 1 cm; der zwischen den Ringen liegende Teil der Kulturschale war mit diffus angelegten Sklerotien bedeckt, zwischen welchen Konidien standen; auch in der Mitte waren vereinzelte Sklerotien und Konidien sichtbar.

2. Einfluß der Quantität der Nährstoffe.

Um den Einfluß, welchen die Menge der gebotenen Nährstoffe auf die Bildung von Konidien und Sklerotien ausübt, zu prüfen, wurden Kulturschalen mit ca. 15 ccm und 30 ccm Nähragar gefüllt und wie üblich behandelt. Zur Verwendung kamen Pflaumensaftagar, Kaliumnitrat-Dextroseagar, Kaliumnitrat-Glyzerinagar, Chlorammon-Dextroseagar, Chlorammon-Glyzerinagar. Das Wachstum war gleichmäßig auf allen Kulturschalen mit dünner Schicht geringer als auf denen mit dicker Schicht; dagegen kam es zu keiner Änderung in der Anlage der Dauerformen und die Resultate entsprechen hierin den früher geschilderten. Auf Kaliumnitrat-Dextrosenährboden war auf der dicken Agarschicht eine sehr große Menge Sklerotien gebildet; diese zeigten teilweise deutliche gewundene Formen, die wohl auf Vereinigung mehrerer junger Sklerotien miteinander zurückzuführen sind, ohne daß jemals eine besondere Ringzone zu erkennen gewesen wäre. Die Konidien standen in spärlicher Anzahl zwischen ihnen. Derselbe Nährboden mit dünner Schicht hatte gleichfalls zur Sklerotienbildung geführt; ihre Größe war aber weit geringer, ihre Zahl war bei mäßig und üppig ernährten Kulturen dieselbe. (Schalen von 5 cm r.). Es werden bei beiden Versuchen etwa 570 Sklerotien gebildet, die auf der mäßig ernährten Kultur nur klein blieben, dagegen auf der üppig ernährten sehr groß und stark verzweigt waren. Die gleiche Anzahl auf Kaliumnitrat-Dextroseagar ist wohl darauf zurückzuführen, daß auf der üppig ernährten Kultur mehrere Sklerotien

[1]) Über die Bedeutung der Jahreszeit wird später bei Behandlung der Transpirationswirkungen zu sprechen sein.

[2]) Doch möchte ich nicht unerwähnt lassen, daß auf die Deutlichkeit der Ringbildung die Pflaumensorte (Zucker, Säuregehalt?) einen ausgesprochenen Einfluß hat.

zu einem verschmolzen sind. Die Konidien werden durch die Dicke der Nährschicht nicht nennenswert beeinflußt.

Bei den Pflaumensaftkulturen ließ sich auf der Kulturschale, welche mit der größeren Menge Nährboden beschickt war, eine deutliche Ringbildung (s. o.) aus 181 großen Sklerotien bestehend, erkennen; auf der dünnen Schicht waren nur wenige Sklerotien (56) gebildet und infolgedessen ein zusammenhängender Ring nicht mehr wahrnehmbar. Konidien waren auch hier etwa in gleicher Menge bei beiden Versuchen entstanden. Die Parallelversuche auf den übrigen Nährböden zeichneten sich nur durch stärkere Konidienbildung auf dicker Schicht, durch geringere Konidienbildung auf der dünnen Schicht aus. Auf Kaliumnitrat-Glyzerinagar, der wie bereits gesagt, die Sklerotienbildung nur mäßig fördert, waren auf Schalen von 5 cm r. keine Sklerotien zustande gekommen; die Sklerotienbildung konnte nur auf größeren Kulturschalen (18 cm Durchmesser) beobachtet werden. Auf eine solche bezieht sich auch die oben gegebene Zählung.

3. Einfluß der Reaktion.

Der benutzte Kaliumnitrat-Dextrosenährboden zeigt an und für sich eine saure Reaktion, bedingt durch den Zusatz von Monokaliumphosphat, und zwar brauchten 10 ccm des Nährbodens 0,04 ccm Normal-Lauge. Auch der Pflaumensaftagar reagiert sauer (10 ccm brauchten 0,2 ccm Normal-Lauge unter Verwendung von Phenolphtalein als Indikator zur Neutralisation).

Einige orientierende Versuche, die ohne Kontrolle des Säuregrades des Nährbodens angestellt wurden (einige Tropfen einer annähernd normalen Phosphorsäure wurden mit dem Kaliumnitrat-Dextrosenähragar vermischt), zeigten, daß die Sklerotien ihre diffuse Anordnung verloren und eine mehr oder weniger deutliche Ringbildung annahmen. Wurde das Nähragar mit drei Tropfen einer etwa 10prozentigen Kalilauge versetzt, so wurden die Sklerotien in zwei ausgesprochenen Ringen angelegt. Ihre Bildung resp. Reifung wurde durch die Alkaleszenz stark verzögert und erfolgte erst nach acht Tagen, im Gegensatz zu einem sonst beobachteten Zeitraum von vier bis fünf Tagen. Die durch Zusatz von Phosphorsäure und Kalilauge auf einem Kaliumnitrat-Dextroseagar erhaltene Sklerotienringbildung wurde nun auch systematisch durch verschiedene Mengen von Säure und Lauge zu bestätigen gesucht. Es wurden 30 ccm Agar verwandt und mit verschiedenen Mengen Säure (Phosphorsäure annähernd normal und Normal-Kalilauge) versetzt. Ein Zusatz von 0,1 ccm Phosphorsäure ergab Andeutung zur Ringbildung. Bei 0,15 und 0,2 ccm entstanden ausgesprochene Ringe mit einem Radius von 2,5 cm. Ein höherer Zusatz von Säure verhinderte das Erstarren des Agars.

Ein Zusatz von Kalilauge in Mengen von 0,05 ccm bewirkte Beginn der Ringbildung von 0,75 ccm eine sehr deutliche Ringbildung mit einem

Radius von 2 cm. Bei einem Zusatz von 1 ccm Normal-Kalilauge waren zwei Ringe mit einem Radius von 3 und 4 cm gebildet.

Die Ergebnisse dieser Versuche stehen in merkwürdigem Einklang mit Beobachtungen, die ich machte, wenn ich den sonst verwendeten Kaliumnitratdextrosenähragar zu gleichen Teilen mit Wasser verdünnte oder diese nur 1 % Agar enthaltenden Gallerte mit *Botrytis* beimpfte. Die Kulturschale zeigte etwa nach 4—5 Tagen ein ähnliches Bild, wie ich es sonst bei Pflaumensaftagar beobachtet hatte: typische Ringbildung. Nach früheren Untersuchungen[1]) erleidet aber Agar durch Behandlung mit Säuren in der Wärme eine bedeutende Einbuße an seiner Konsistenz; er wird mit zunehmendem Säure- und auch Alkalitätsgrade nach dem Erstarren immer weicher, und bei einem gewissen Säure- und Alkaligehalt verliert er völlig seine Fähigkeit zu erstarren. Es liegt hiernach die Frage nahe, ob diese Ringbildung nur indirekt dem Säuregehalte ihren Ursprung verdankte, insofern, als die Säure auf die Konsistenz des Agars einwirkt. Diese Frage konnte beantwortet werden, wenn der Agar angesäuert, aber seine Konsistenz nicht durch den Zusatz verändert wurde. Ich erreichte dies, indem ich nachträglich auf den sterilisierten Agar Säure auftrug, welche nach etwa einem Tage von dem Nährboden aufgenommen war. Durch diese Behandlung leidet die Festigkeit des Agars nicht.

In der Tat zeigte es sich, daß die Ringbildung der Sklerotien auf diesen so behandelten Platten ausblieb und nur eine diffuse Verteilung auftrat.

Es wurde versucht, lokal die Reaktion des Nährbodens (Pflaumensaftagar) zu beeinflussen, indem Substanzen saurer oder alkalischer Reaktion aufgetragen wurden. Kohlensaurer Kalk bewirkte eine stärkere Myzelanhäufung; die Sklerotien wurden indes gleichzeitig mit der Kontrollprobe nach vier Tagen angelegt. Magnesiumoxyd verursachte zunächst gleichfalls eine starke Myzelbildung, außerdem aber neben einer um vier Tage verspäteten Sklerotienbildung eine Erweiterung des Sklerotienringes. Harnsäure und Weinsäure waren auf Zeit und Anlage der Sklerotien ohne bemerkbaren Einfluß. Ob bei diesen Erscheinungen die aufgestreuten Substanzen durch die Reaktion wirksam werden, bleibt zweifelhaft.

Man hätte nun erwarten können, daß *Botrytis* beim Übergang von saurem auf alkalischen Nährboden oder umgekehrt besondere Wachstumserscheinungen oder Anlage von Dauerformen durch Wechsel der Reaktion aufweisen würde. Die Versuche wurden so angestellt, daß ein angesäuerter Kaliumnitrat-Dextroseagar in einer Kulturschale wie üblich sterilisiert wurde und nach dem Erkalten zur Hälfte mittels sterilen Messers herausgenommen und statt seiner ein gleich alkalischer Agar hineingegossen wurde. Bei dem Wachstum konnte weder bei Aussaat der Sporen auf

[1]) Reidemeister, s. Anm. p. 22.

dem alkalischen noch auf dem sauren Felde, noch in der Mitte der beiden eine besondere Erscheinung an der Grenze der Felder wahrgenommen werden; hingegen waren die Sklerotien auf dem sauren Felde rundlich und getrennt voneinander ausgebildet; auf dem alkalischen Felde lagen sie zum Teil dicht aneinander und zu gewundenen Gebilden verwachsen.

4. Einfluß des osmotischen Druckes.

Der Einfluß des osmotischen Druckes wurde u. a. auch mit Versuchen geprüft, bei welchen dem Nährboden wechselnde Mengen von Salpeter zugesetzt wurden. Allerdings läßt sich bei Zugabe dieses Stoffes die Wirkung des erhöhten bzw. herabgesetzten osmotischen Druckes deswegen nicht klar beurteilen, weil Salpeter, wie wir gesehen haben, zu den besten Nährmitteln der *Botrytis* gehört, mit ihm daher mehr als ein nur osmotisch wirksames Mittel eingeführt wird. Deshalb will ich zunächst die Versuche schildern, bei welchen durch mehr oder minder reichliche Kochsalzgabe ein verschieden hoher osmotischer Druck in dem Nährsubstrat bewirkt wurde, und erst dann auf die Ergebnisse, welche ich mit Salpeter erhielt, eingehen.

Kaliumnitrat-Dextroseagar (0,5 % Salpeter) wurde bis zu 2,5 % mit Kochsalz versetzt. Durch diesen Zusatz änderte sich deutlich steigend die Anlage der Dauerformen. Es entstanden sowohl Sklerotien wie Konidien, erstere auch noch bei 2,5 % Kochsalz; aber steigend mit der Kochsalzmenge nahm auch die Menge der Konidien zu. Die Sklerotien nehmen an Größe ab, ohne daß sich ihre Menge wesentlich geändert hätte. Dasselbe Ergebnis, nämlich Vermehrung der Konidien, erhielt ich auch auf Pflaumensaftagar. Durch Kochsalzgaben bis 2 % wurden diese erheblich gefördert. Dabei war analog zu den auf Kaliumnitrat-Dextroseagar angestellten Versuchen zu beobachten, daß die Sklerotiengröße in demselben Maße abnimmt und ihre Zahl im wesentlichen erhalten bleibt. Bei 1 % Kochsalz konnte ich noch deutliche Ringbildung der klein gewordenen Sklerotien auftreten sehen. Bei 2 % war auf einer Kultur, die im Hellen (die Bedeutung des Lichtes auf die Sklerotienbildung wird unter Transpiration behandelt werden) gestanden hatte, keine Sklerotienbildung mehr zu bemerken; die Kulturschale war aber völlig mit Konidien angefüllt.

Wir hatten gesehen, daß auf einem Agar mit 5 % Dextrose ohne N-Quelle bereits Sklerotien angelegt werden. Es wurde nun verfolgt, wie sich die Menge der zugefügten N-Quelle — Salpeter — zu der Menge der Sklerotien verhalten würde. Zu diesem Zwecke wurde daher die Salpetergabe von 0,1 auf 2,5 % stufenweise gesteigert, auf einem Nährboden, der außer den üblichen unorganischen Salzen nur 5 % Dextrose enthielt. Es stellte sich dabei heraus, daß sich durch Salpetergabe bis etwa 0,8 % die Menge der Sklerotien steigert; von 0,8—2,5 % dagegen sieht man die Sklerotien kleiner werden; ihre Menge ändert sich nicht

wesentlich, aber es treten Konidien in größerer Menge auf, die bei einem Gehalt von 2,5 % Salpeter die ganze Schale bedecken. Hierin haben wir offenbar einen osmotisch bedingten Effekt der Salpeterernährung zu sehen. Die zunächst beobachtete Zunahme der Sklerotienzahl bei einem Gehalt bis zu 0,8 % Salpeter führe ich auf die sklerotienfördernde Seite der Nitraternährung zurück und stütze diese Vermutung durch folgenden Versuch. Es wurde von einer Konzentration von 0,5 % ab die Menge des Salpeters herabgesetzt und für diesen Körper als osmotische Substanz Kochsalz in isotonischen Mengen hinzugefügt. Auch hier erfolgte Abnahme der Sklerotienzahl.

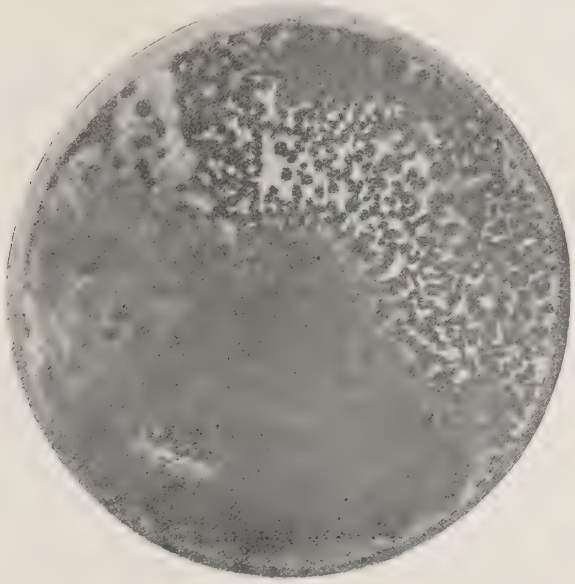
Analoge Ergebnisse wurden auch auf Pflaumensaftagar erhalten; wurde zu diesem Nährboden Salpeter bis zu 0,3 % hinzugefügt, so wurde dadurch die Sklerotienzahl erhöht. Die Ringbildung wurde hierdurch nicht unterdrückt, jedoch durch Ausbildung zahlreicher Sklerotien zwischen den Ringen undeutlicher. Bei 0,3—1 % Salpeter erfolgte jedoch wieder eine Verringerung der Sklerotiengröße, daneben eine vermehrte Konidienbildung.

Man sieht aus diesen Versuchen, daß bis zu einer optimalen Menge Salpeter ein die Sklerotienzahl begünstigendes Mittel ist; über diese Grenze hinaus jedoch wirkt es als osmotische Substanz und veranlaßt dabei erhöhte Konidienbildung. Ich werde am Schluß des über Transpirationswirkungen handelnden Abschnittes noch einmal auf diesen Punkt kurz zurückkommen.

5. Einfluß der Transpiration.

Von allergrößtem Einfluß auf die Bildung von Konidien und Sklerotien ist die Transpiration; man erkennt diesen Einfluß ohne weiteres, wenn man unter sonst gleichen Kulturbedingungen eine Kulturschale bedeckt, eine andere unbedeckt, nur mit einer größeren Glasglocke vor Fremdinfektion geschützt, stehen läßt. Im ersteren Falle ist der Luftraum klein und wird sich bald mit Wasserdampf sättigen, im zweiten ist er viel größer, und wenn man Sorge trägt, daß die Glasglocke nicht dicht auf der Unterlage aufsitzt, wird überdies durch Zirkulation der Kultur stets neue trockne Luft hinzugeführt. Es werden im ersteren Falle vorwiegend Sklerotien in der bekannten Anordnung, im zweiten dichte Konidienrasen und keine oder nur wenige Sklerotien angelegt; letzteres ist der Fall, wenn man diese Transpirationsversuche im Dunkeln ausführt. Die Versuche lassen sich in der Weise variieren, daß man die trockne Luft nur auf einige Stellen des wachsenden Myzels einwirken läßt, indem man die Kulturschale mit einer perforierten Glasscheibe bedeckt. Durch diese Versuchsanordnung gelang es mir, an der betreffenden Stelle einen Büschel von Konidien zu erzeugen, gleichgültig, ob die Perforation sich über der Impfstelle oder seitlich von dieser befand. Der übrige Teil der Kulturschale zeigte auf einem Kaliumnitrat-Dextrosenährboden die übliche

zerstreute Verteilung der Sklerotien. Analoge Ergebnisse ließen sich erzielen, wenn nur eine Hälfte bedeckt wurde; alsdann entstanden auf der unbedeckten Seite Konidien, auf der bedeckten Sklerotien. Diese Unterschiede wurden besonders deutlich, wenn die Schalen mit Nährboden möglichst hoch aufgefüllt wurden und somit die Verdunstung auf den bedeckten Teilen der Schale nach Möglichkeit herabgesetzt wurde. Es ist kein Zweifel, daß diese verschiedene Ausbildung von Dauerformen



Figur 1.

Beistehende Abbildung zeigt den Unterschied des Wachstums von *Botrytis* im Dunkeln und im Hellen sehr deutlich: Eine Kulturschale war mit schwarzem Papier beklebt und nur ein Sektor unbekleidet geblieben. Bei dem Wachstum der ausgesäten *Botrytis* entstanden unter dem unbekleideten Sektor Konidien in großer Menge, während auf dem übrigen Nährboden Sklerotien in diffuser Anordnung gebildet wurden.

in engem Zusammenhange mit der Transpiration steht. Daß herabgesetzte Transpiration für Sklerotienbildung günstig wirkt, erhöhte Transpiration die Konidienbildung fördert, geht auch aus denjenigen Versuchen hervor, bei welchen ich indirekt den Grad der Transpiration zu beeinflussen suchte: Hohe Temperatur und Belichtung fördern die Transpiration, geringe Temperaturgrade und Dunkelheit setzen sie herab.

Die Temperaturversuche ergaben sich insofern zum Teil von selbst, als ein bemerkenswerter Unterschied zwischen den im Winter und Sommer erzielten Resultaten sich herausstellte: Im Winter trugen die Kulturen mehr Sklerotien, im Sommer unter sonst gleichen Versuchsbedingungen mehr Konidien. Diese Wirkung des Temperaturwechsels — die Temperatur im Laboratorium betrug etwa 23° im Winter, 28—30° im Sommer —

konnte ich auch auf einer Kulturschale erhalten, wenn ich *Botrytis* zuerst bei einer Temperatur von etwa 30° kultivierte und sie dann bei niedriger Temperatur weiter wachsen ließ. Es entstanden alsdann auf der Fläche, die bei 30° bewachsen war, Konidien, während auf dem übrigen Teil der Schale vorwiegend Sklerotien angelegt wurden.

Wie hier Unterschiede in der Ausbildung von Dauerformen in der Mitte und am Rande der Schale, konnte ich auch einseitig die Konidienbildung fördern, indem ich die Kulturschale in die Nähe einer Wärmequelle, z. B. eines Mikrobrenners stellte. An der der Wärmequelle entgegengesetzten relativ kühlen Seite entstanden Sklerotien. Indessen gelang es nicht, das wachsende Myzel durch plötzlichen Temperaturwechsel, sei es, daß ich eine kühlgehaltene Kultur kurze Zeit höheren Wärmegraden aussetzte, oder eine bei Zimmertemperatur kultivierte Schale eine Stunde auf 0° abkühlte, zu einer Reaktion anzuregen.

Es ist ferner bekannt, daß das Licht die Transpiration beeinflußt, indem mit dem Grade der Belichtung die Transpiration steigt. Demnach war zu erwarten, daß bei stärkerer Belichtung mehr Konidien, bei Dunkelheit vorwiegend Sklerotien entstehen würden. Einen Versuch, der dies bestätigt, habe ich bereits unter „Einfluß des osmotischen Druckes“ aufgeführt, bei dem ich auf Pflaumensaftagar mit 2 % Kochsalz im Dunkeln noch Sklerotien erhielt, während die Kultur im Hellen keine solche mehr aufwies. Die bevorzugte Konidienbildung infolge stärkerer Transpiration bei stärkerer Beleuchtung machte sich gleichfalls geltend bei den Kulturen im Sommerhalbjahr; ich sah mich deshalb genötigt, zur Erforschung der Bedingungen der Ringbildung durch sonstige Einflüsse die Kulturen im Dunkeln und bei niedriger Temperatur zu halten.

Nach den Ergebnissen der bisherigen Versuche, die über die Einwirkung des Lichtes auf die besondere Gestaltung von Kulturen gemacht sind, wird ihm ein besonderer Einfluß für die Ringbildung bei *Sclerotinia* (Molz), *Penicillium* usw. zugeschrieben. Wie verhält es sich nun bei *Botrytis*? Spielt hier das Licht als solches bei der Ringbildung eine besondere Rolle? Dazu möchte ich zunächst bemerken, daß ich die Versuche bei Sonnenlicht, bei zerstreutem Tageslicht und im Dunkeln angestellt habe. Wiederholt wurden Versuchsreihen auf Kaliumnitrat-Dextroseagar im Gewächshause des Instituts aufgestellt, das oben und seitwärts von Glasscheiben bedeckt, den direkten Sonnenstrahlen freien Eintritt gestattet. Ferner: das Myzel des Pilzes brauchte nach Auskeimung der Sporen etwa drei Tage, bis es die Kulturschale ganz erfüllt. In diesen drei Tagen ist es dreimal den direkten Sonnenstrahlen ausgesetzt gewesen, und trotzdem typische diffuse Sklerotienbildung auf Kaliumnitrat-Dextroseagar sowohl im Winter wie im Sommer — im letzteren Falle mit gesteigerter Konidienbildung — und gleichgültig, ob ich die Kulturschalen in unveränderter Lage beließ oder sie auf einem Orthostaten in steter Drehung hielt. Analog den Versuchen von Hutchinson, welchem

es gelang, durch Belichtung einer im Dunkeln kultivierten *Oidium*-Kultur Ringbildung zu erzielen, setzte ich dunkel gehaltene *Botrytis*-Kulturen eine halbe Stunde den direkten Sonnenstrahlen aus, ohne Ringbildung erzielen zu können. Daraus muß ich schließen, daß dem Lichte nicht die Bedeutung für die Ringbildung von *Botrytis* zukommt, wie vielleicht bei andern Organismen.

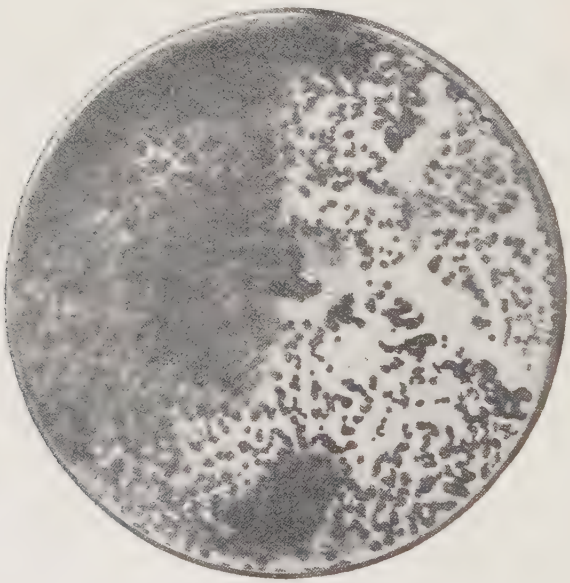
Wenn nun auch die Einwirkung des Lichtes sich nicht dadurch äußert, daß sie direkt zur Ringbildung Anlaß gibt, so scheint doch auch bei *Botrytis* das Licht unter bestimmten Bedingungen indirekt Ringbildung veranlassen zu können, vermutlich indem es die Transpiration in bestimmtem Sinne beeinflußt. Die ersten Ergebnisse, die mich auf etwaige Beziehungen aufmerksam machten, erhielt ich unbeabsichtigt auf mehreren Kulturschalen, die über einander gestanden und daher nur eine bescheidene Menge Licht seitwärts erhalten hatten. Auf der Hälfte, die dem Lichte zugekehrt war, hatten sich Sklerotien in der bekannten diffusen Anordnung gebildet; auf der beschatteten Seite hingegen lagen die Sklerotien in Ringform. Um diese zufällig bemerkten Erscheinungen näher zu prüfen, habe ich planmäßig eine größere Versuchsreihe angestellt und die Schalen zur Hälfte mit Papier bedeckt dem Lichte ausgesetzt. In allen diesen Fällen war auf der beschatteten Seite eine deutliche Neigung zur Ringbildung zu erkennen. Eine befriedigende Erklärung für die Erscheinung kann ich nicht geben und nur vermutungsweise bringe ich die geschilderte Erscheinung mit der durch die beschriebene Versuchsanstellung beeinflußten Transpiration in Zusammenhang.

Wie wirken nun die verschiedenen Strahlen des Spektrums auf *Botrytis* ein? Nach Pringsheim[1]) wird die Wirkung des Sonnenlichtes auf das Wachstum nur wenig geschwächt, wenn man die Strahlen eine Lösung von Kupferoxydammoniak passieren läßt; dagegen wird die Wirkung durch eine Lösung von Kaliumbichromat sehr vermindert. Demnach war zu erwarten, daß *Botrytis* bei Kultur im blauen Licht wenig anders reagieren würde wie im Sonnenlicht. Die Versuche, die ich angestellt habe, bestätigen dies vollständig. Die Kulturen, die unter einer mit Kupferoxydammoniak gefüllten Senebierschen Glocke kultiviert wurden, ergaben nur dicke Polster von Konidien; Sklerotien fehlten völlig. Eine Kultur im roten Licht, d. h. hinter einer mit Kaliumbichromat gefüllten Glocke zeigte kein anderes Bild wie eine Kultur im Dunkeln: diffus verteilte Sklerotien mit wenig Konidien. Die früher festgestellte Tatsache, daß Belichtung infolge Erhöhung der Transpiration fördernd auf Konidienbildung wirkt, kann zur Erklärung dieser Beobachtung nichts beitragen, die Versuche mit farbigem Licht machen mit einem weiteren Faktor bekannt, der infolge von Transpiration die Konidienbildung zu fördern imstande ist. Diese Ergebnisse mit *Botrytis* entsprechen denen, die mit

[1]) Pringsheim, Jahrb. f. wissensch. Botanik 1879, Bd. 12, p. 288.

anderen Pilzen erhalten worden sind. Nach Pfeffer[1]) verhält sich *Pilobolus microsporus* und *Coprinus* in bezug auf die Anlage und Ausbildung des Sporangiums, bzw. des Hutes hinter Kaliumbichromat (im gelbroten Lichte) wie im Dunkeln, hinter Kupferoxydammoniak (im blauen Lichte) wie am Tageslicht. Lakon[2]) fand ferner, daß im blauen Licht gehaltene Kulturen auch die Verhältnisse der bei normaler Beleuchtung wachsenden Kulturen wiedergeben.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen stehen die Beobachtungen, die Klein[3]) über die Sporenbildung bei *Botrytis* angestellt hat. Klein gibt an: „Die rotgelbe Hälfte des Spektrums befördert, die blauviolette hemmt die Sporenbildung und diese Hemmung ist stark genug, der Beschleunigung das Gleichgewicht zu halten. Das Resultat ist darum am Tage gleich



Figur 2.

Null. Das Lampenlicht dagegen, in dem die rotgelbe Hälfte stärker ist, wirkt als positiver Reiz. Dunkelheit begünstigt, wie Verdunkelung junger Kulturen gezeigt hat, ebenfalls die Sporenbildung; deshalb tritt letztere unter normalen Verhältnissen nur nachts ein.“ Gegenüber diesen Ergebnissen kann ich nur auf meine Figur 2 verweisen, welche scharf geschieden die Ergebnisse des Wachstums von *Botrytis* unter rotem und

[1]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie II, pag. 117.

[2]) Lakon, Die Bedingungen der Fruchtkörperbildung bei Koprinus Ann. micolog. V No. 2 1907 pag. 155.

[3]) Klein, Über die Ursachen der ausschließlich nächtlichen Sporenbildung von *Botrytis cinerea*, Bot. Zeitg. 1885. 43 pag. 6.

blauem Licht zeigt. Die rechte Hälfte der Figur, welche schon durch den hellen Grund zwischen den massenhaft vorhandenen schwarzen Sklerotien zeigt, daß hier Konidien sehr spärlich oder gar nicht vorhanden sind, stellt die im roten Lichte gewachsene Hälfte einer *Botrytis*-Kultur dar; die linke dunkle Hälfte dagegen hat ihr Aussehen von den in übergroßer Menge vorhandenen Konidienträgern; diese Hälfte der Kultur ist in blauem Lichte gewachsen. Auf welcher Ursache die verschiedenen Resultate, die Klein und ich gefunden haben, beruhen, sowie welche Unterschiede im einzeln für diese Ergebnisse maßgebend gewesen sind, kann ich nicht angeben,

Vielleicht ist hier die geeignetste Stelle, um noch einer weiteren Versuchsserie zu gedenken, bei welcher — ähnlich wie bei Kultur auf unbedeckten Schalen oder bei Kultur auf hochkonzentrierten Medien — die Konidienbildung auf Kosten der Sklerotienbildung stark gefördert erschien. Petri-Schalen verschiedenen Umfanges wurden mit feinem Seesand (Merck) gefüllt und dieser mit geeigneter Nährlösung (Pflaumensaft) durchtränkt. *Botrytis* wächst auf solchen Sandnährböden recht gut und in wenigen Tagen bedeckt sich der Sand mit dichtem Konidienrasen. Die Sklerotienbildung fehlt nicht ganz, tritt aber stark zurück. Der Vergleich mit den bei Besprechung des Einflusses der Konzentration und den soeben geschilderten Ergebnissen führt mich zu der Vermutung, daß das übereinstimmende Resultat der reichlichen Konidienbildung in allen drei Fällen auf ähnliche wirksame Faktoren zurückzuführen sein mag. Vielleicht ist es die adsorbierende Kraft der Sandpartikelchen, welche den Pilz hinsichtlich seiner Wasserversorgung in ähnliche Lage bringt, wie etwa Kultur in hochkonzentrierten Lösungen. Freilich kann ich auf diese Beziehungen nur vermutungsweise hinweisen.

6. Einfluß narkotischer Mittel und anderer Gifte.

Die Narkose wirkt nach Pfeffer[1]) auf manche höhere Pflanzen dadurch, daß sie ein früheres Austreiben und eine Verkürzung der Ruheperiode herbeiführt: „Durch transitorisches (12—48stündiges) Ätherisieren wird also in der Pflanze gleichsam eine Revolution hervorgerufen, die sich auch in der Steigerung der Atmungs- und Stoffwechseltätigkeit kund gibt. Da eine Beschleunigung der Atmung sowie der Wachstumstätigkeit allgemeiner durch submaximale Dosen von Giften usw. veranlaßt wird, so wird vermutlich auch eine gewisse Modifikation der Ruheperiode durch die Einwirkung verschiedener anderer Stoffe erreichbarer sein.“

Die Narkose hat auf *Botrytis* eine auffallende Wirkung; sie führt zur Ringbildung. Läßt man unter einer Glasglocke auf eine Kulturschale mit wachsendem Myzel kurze Zeit Ätherdämpfe einwirken, so bildet sich an

[1]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie II, pag. 266.

der Stelle, wo sich der Saum der jüngsten Myzelspitze befindet, nach 5 Tagen ein Sklerotienring aus, auch wenn der Nährboden an sich nicht für Ringbildung günstig ist. Diese Erscheinung hängt damit zusammen, daß die jüngsten Teile des Myzels zur Verzweigung angeregt werden und die nun erfolgende Verzweigung die Bildung von Sklerotien einleitet. Außer Äther habe ich noch Petroläther, Kampfer und Chloroform benutzt: es trat bei sämtlichen, sobald sie in Dampfform angewandt worden, dieselbe Reaktion ein.

Das Ätherisieren wurde in der Weise ausgeführt, daß die Kulturschalen, ohne daß ihre Deckel gelüftet wurden, unter eine Glasglocke von 2 l Inhalt gestellt und auf den Deckel der Schalen ein Wattebausch mit 5 ccm

Figur 3.

Äther getränkt, gelegt wurde. Die Dauer der Einwirkung betrug bei 5 ccm $^1/_2$ und 1 Stunde; außerdem wurde die Äthermenge auf 30 ccm gesteigert und die Kulturen nur $^1/_2$ Stunde der Einwirkung ausgesetzt. Das Ergebnis war in beiden Fällen das gleiche.

Bei der Narkose mit Petroläther wurden 30 ccm angewandt, die in einem Raum von ca. 500 ccm verdunsteten.

Während diese beiden Mittel niedrige Siedepunkte besitzen und leicht flüchtig sind, liegen bei Chloroform und Kampfer Körper mit höherem Siedepunkte (61 resp. 295°) und geringerer Flüchtigkeit vor. Es wurde deshalb notwendig, die Körper bei höherer Temperatur zu verdampfen: die Kulturschalen wurden mit den genannten Substanzen bei 30° in den Thermostaten gestellt. Alsdann ergab sich dasselbe Resultat wie bei der

Äther- und Petroläthernarkose; bei schwächerer Narkotisierung war der Einfluß nicht so deutlich zu bemerken.

Die Menge des Chloroforms wurde in Grenzen von 5—30 ccm gehalten, der Verdunstungsraum betrug wiederum 1 und 2 l, die Einwirkung $^1/_2$—1 Stunde. Bei Kampfer, welcher noch schwerer flüchtig ist, war es noch mehr notwendig, durch Erhöhung der Temperatur die Verdampfung zu begünstigen. Die gleiche Behandlung, Einstellen in einen Thermostaten von 30° ergab aber auch hier einen sehr deutlichen Erfolg. (Angewandte Menge ca. 3 g in kleinen Stücken, Verdunstungsraum ca. 500 ccm.)

Die Versuche wurden auf Kaliumnitrat-Dextroseagar ausgeführt, und es gelang hier, die Lage der Ringe zu beeinflussen und sie an bestimmten Stellen zu erzeugen, wenn man nur die Kulturschale, solange das wachsende Myzel noch nicht den Rand der Schale erreicht hatte, zu beliebigen Zeiten der Einwirkung der Narkose aussetzte. Auch auf Pflaumensaftagar läßt sich die Lage des Ringes bestimmen. Es gelang z. B. Ringe auf diesem Nährboden zu erzeugen, die schon einen kleineren Radius als sonst (3,5 cm) besaßen. Auf verschiedenen Nährböden: Ammonchlorid-Dextroseagar, Ammonchlorid-Glyzerinagar, auf welchen keine Sklerotienbildung zustande kam, ließen sich auch nach Anwendung von Narkose keine Sklerotien beobachten. Auf Kaliumnitrat-Glyzerinagar dagegen konnte durch große Äthermengen (30 ccm) und lang währende Narkose (3 Stunden) eine Sklerotienbildung in Ringform erzielt werden.

Es lag nun die Frage nahe, ob es sich hierbei um spezifische Mittel handele und ob auch andere Gifte gasförmiger Natur dieselbe Wirkung auslösen könnten; in der Tat gelang es mir, eine Verzweigung mit nachfolgender Sklerotienringbildung auch zu erzielen, wenn ich die Kulturschalen etwa 5—10 Sekunden über Osmiumsäure- oder Formalindämpfe hielt.

7. Verletzung.

Verwundung oder Entfernung wachsender Pflanzenteile führt in manchen Fällen zu Neubildungen. Ort der Neubildung und Qualität der Regenerate werden dabei, wie bekannt, vielfach von den Gesetzen der Polarität bestimmt, sowohl bei höheren Pflanzen wie bei Thallophyten (Algen, Pilze). Durchschnittene Pilzfäden verzweigen sich oft an der Wundfläche und zwar vorzugsweise oder ausschließlich am apikalen Ende des betreffenden Hyphenstücks. Ähnlich verhält sich das Myzel von *Botrytis*, welches nach Verwundung neue Fäden bildet, die schließlich nach fünf Tagen sich zu Sklerotien zusammenschließen; die Polarität äußert sich dabei insofern, als nur an den apikalen Enden Neubildungen auftreten, während die basalen Enden keinerlei Reaktion aufweisen. Meine Versuche habe ich in der Weise ausgeführt, daß ich wachsendes Myzel in der Nähe der Spitzen durchschnitt. Die Schnitte wurden in radialer und tangentialer Richtung geführt. Nur die tangentialen Schnitte führten zu einer späteren

Sklerotienbildung und zwar immer dort, wo junges Myzel getroffen war; die Sklerotien lagen also stets auf der dem Zentrum der betreffenden Myzelplatte zugewandten Seite des Schnittes. Myzel in vorgerücktem Alter, besonders kurz vor der allgemeinen Sklerotienbildung, reagierte nicht mehr auf die Verwundung. An radialen Schnitten konnte ich keine Sklerotienbildung wahrnehmen. Diese Versuche beziehen sich auf Kaliumnitrat-Dextroseagar, auf welchem die Wirkungen sehr deutlich auftraten. Auf Nährböden, welche für Sklerotienbildung ungünstig waren, ließ sich das Myzel durch Verwundung nicht zu Sklerotienbildung anregen; es entstanden allerdings auf Ammonchlorid-Glyzerinnährboden an der Schnittfläche dichte Myzelhaufen, die den Anschein zu einer beginnenden Sklerotienbildung erweckten; aber diese Myzelfäden blieben isoliert und schlossen sich nicht zu einem Sklerotium zusammen.

Ebenso wie nach Narkose findet somit auch nach Verwundung eine starke Verzweigung des Myzels statt, die bei Anwendung geeigneter Nährböden zu einer Bildung von Sklerotien den Anlaß gibt. Mit Hilfe beider Mittel gelingt es somit, die Lage der Sklerotien bzw. Sklerotienringe willkürlich zu bestimmen.

8. Nahrungsentzug und Wachstumshemmung.

Durch vielseitige Beobachtungen ist bekannt, daß ein gut ernährter Organismus auf Nahrungsentzug durch verschiedene morphologische Erscheinungen reagiert. Die Aufgabe, einem zunächst gut ernährten Organismus seine Nahrung zu entziehen, ist von verschiedenen Autoren in verschiedener Weise gelöst worden. Bei den Versuchen z. B. Hansens[1]) mit Hefe ist nach Klebs[2]) der bei der Sporenbildung maßgebende Faktor die Entziehung von Nahrung, die bei der Übertragung kräftig vegetierender Hefen auf Gipsblöcke eintritt; bei anderen Gelegenheiten hat man kräftig wachsendes Myzel von seinem Nährboden abgehoben und in Wasser übertragen. Beide Methoden der Beeinflussung der Ernährung waren bei meinem Objekt nicht ausführbar, weil bei *Botrytis* die Fruktifikation dem Wachstum zu rasch folgt. Ich benutzte deshalb folgende Methode: es wurden vom Drechsler Holzplatten von 9,5 cm Durchmesser hergestellt mit ringförmiger Kanellur derart, daß ausgedrehte vertiefte Ringe mit erhabenen Stegen wechselten. Diese Scheibe wurde nun in eine Petrischale gelegt, sterilisiert, und mit Nähragar — es kamen Pflaumensaftagar und Kaliumnitrat-Dextroseagar zur Verwendung — derart übergossen, daß die tiefen Stellen völlig mit Agar angefüllt waren, das Agar jedoch über den Stegen nur etwa 2—3 mm hoch stand. In der Mitte war die Scheibe

[1]) Hansen, Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques II les ascospores etc. (C. R. trav. labor. Carlsberg vol. II, 1883.)

[2]) Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze, III. Jahrb. f. wissensch. Bot. 1900, p. 94, 95.

gleichfalls tief ausgehöhlt und mit Nähragar gefüllt. Durch diese Versuchsanordnung wurde erzielt, daß das wachsende Myzel abwechselnd dicke und dünne Schichten passieren mußte und ihm abwechselnd reichliche und spärliche Nahrung geboten wurde. Wurde nun *Botrytis* in der Mitte ausgesät, so bot sich nach etwa acht Tagen folgendes Bild: über den Stegen, d. h. an den Stellen mit geringer Nährstoffmenge Sklerotien, auf den ausgesparten Stellen mit reichlicher Nahrung Konidien oder Myzel. Dieses Ergebnis zeigte sich sowohl bei Verwendung von Pflaumensaftagar, wo die Sklerotienringe sehr deutlich mit den Stegen korrespondierten, als auch auf Kaliumnitrat-Dextroseagar, auf welchem doch unter normalen Bedingungen keine Ringbildung zustande kommt. In ähnlicher Weise gelang es, *Botrytis* willkürlich zu Sklerotienbildung zu veranlassen, wenn ich eine Glasscheibe in die Kulturschale einlegte und dafür sorgte, daß sich über der Scheibe nur eine 2—3 mm dicke Agarschicht befand, während an anderen Teilen die Dicke des Agars etwa 8 mm betrug. Es bildeten sich dann um diese Glasscheibe Sklerotien, besonders an den Stellen, die dem Saum des heranwachsenden Myzels zunächst lagen. Auf der Scheibe waren Sklerotien in geringer Zahl und von geringer Größe gebildet, eine gleiche Erscheinung, wie ich sie durchweg bei der Kultur auf allgemein dünner Nährschicht erhielt.

Handelt es sich nun hierbei um Wachstumshemmung oder um Entzug von Nährstoffen? Diese Frage kann nur beantwortet werden, wenn das Tiefenwachstum des Myzels verfolgt wird.

In den ersten drei bis vier Tagen durchdringt das Myzel, vor allem auf der Oberfläche sich ausbreitend, den Nährboden kubisch höchstens bis zu einer Tiefe von 2 mm. Erst in späteren Stadien, nach Anlage der Sklerotien resp. Konidien, dringt das Myzel in einzelnen längeren Zweigen und Ästen bis zum Grund der Petrischale vor unter Entsendung reichlicher seitlicher horizontal wachsender Stränge.

Ein völliges Durchwachsen des Agars erzielt man aber leicht, wenn man das Agar umkehrt; ich konnte z. B. so öfters beobachten, wenn ich den Nährboden heraushob und umkehrte, nachdem auf der zuerst nach oben gerichteten Fläche bereits Sklerotien ausgebildet waren, daß auf der nunmehr zur oberen Seite gewordenen Fläche nach völligem Durchwachsen, von neuem Sklerotien angelegt wurden. Hierbei dürfte wohl der Sauerstoffbedarf des Pilzes die Hauptrolle spielen, da ich z. B. auf Anärobenkulturen niemals ein Wachstum erhielt.

Um zu prüfen, in welcher Weise die im Innern des Agars wachsenden horizontalen Hyphen auf die Sklerotienbildung einwirken können, wenn ihr Wachstum durch mechanische Hemmnisse aufgehoben wird, setzte ich senkrecht auf den Boden der Kulturschale mit Gips befestigte Deckgläser, beschickte die Schale mit Agar und regulierte die Höhe des über dem oberen Rande des Deckglases befindlichen Agars durch Aufgießen resp. Abtragen von 1—0 mm; ich konnte dann beobachten, daß

nur dann Sklerotien gebildet wurden, wenn die über dem Deckglas stehende Agarschicht 0 mm betrug, d. h. wenn das Deckglas mit der Agarschicht abschnitt oder über sie hinausragte. Da bei unsern oben geschilderten Versuchen mit breiten eingelegten Holzringen die Oberfläche der letzteren von der Oberfläche des Agarnährbodens einen sehr viel weiteren Abstand besaß als der Deckglasrand bei den soeben angeführten Experimenten — die Agarschicht über den ringförmigen Holzleisten betrug wenigstens 1,5 mm —, würde die Annahme gerechtfertigt sein, daß die Reaktion, welche wir an den Holzringversuchen wahrnehmen konnten (Sklerotienbildung über den nährstoffarmen Zonen) nichts mit der etwaigen Wachstumshemmung der im Innern des Agars sich verbreitenden Hyphen zu tun hat.

Der Unterschied zwischen den mit aufrecht eingestellten Deckgläsern und den mit untergelegten Holzringen angestellten Versuchen wird sich dadurch erklären, daß bei den Deckglasversuchen der Pilz über die dünnen Glasplättchen hinwegwachsen konnte, ohne eine nährstoffarme Zone von nennenswerter Breite passieren zu müssen.

Eine Reihe weiterer Versuche gaben ähnliche Befunde wie die bisher geschilderten. Doch ist ihre Deutung sehr viel schwieriger. Es handelt sich um die Erscheinungen, die bei Kultur anderer Pilzmyzelien neben *Botrytis* auftreten. Bei der Beobachtung der Reaktionen, die sich an den Kontaktzonen der verschiedenartigen Schimmelpilze beobachten lassen, sind allerhand Faktoren in Rechnung zu ziehen. Vor allem erstens der Entzug der Nährstoffe durch den entgegenwachsenden Pilz, zweitens die Wirkung seiner Stoffwechselprodukte, drittens mechanische Hemmung, die der fremde Organismus gleich jedem anderen Fremdkörper ausüben muß und manches andere mehr. Meine Befunde ließen wenig Gesetzmäßigkeit erkennen: gegen *Penicillium*, *Aspergillus*, *Botrytis* u. a. grenzte sich das in seinem Wachstum gehemmte Botrytismyzel bald durch eine Reihe von Sklerotien, bald durch eine Zone von Konidien ab. Bei Aussaaten mehrerer Botrytisexemplare nebeneinander bildeten sich an der Kontaktzone meist Konidien und diesseits und jenseits des Konidienstreifens je eine Reihe von Sklerotien. Die Vermutung, daß Anhäufung von Stoffwechselprodukten die lokale Bildung von Sklerotien bzw. Konidien so auffällig befördert, habe ich nicht bestätigen können. Auftragen sehr alter *Botrytis*-Nährlösungen, ebenso alter *Mucor*-, *Aspergillus*- und *Penicillium*-Nährlösung, welche ursprünglich neben Dextrose als C-Quelle Nitrat oder Ammonsalze als N-Quelle und daneben die üblichen unorganischen Salze (Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat) enthalten hatten und auf welchen die genannten Pilze sechs bis acht Wochen lang gewachsen waren, veranlaßten zwar kräftige Sklerotienbildung seitens *Botrytis* an den überschwemmten Stellen, wenn sie auf die jüngsten Myzelenden aufgetragen wurde. Dieselbe Reaktion trat aber auch nach Auftragen von Leitungswasser ein, so daß eher eine Auslaugung des Nährbodens und Entzug der Nährstoffe

dabei das Wirksame gewesen zu sein scheint; denn das Auftragen von neuer Nährlösung (5 % Dextrose, 0,5 % Kaliumnitrat, 0,2 % Magnesiumsulfat, 0,2 % Monokaliumphosphat) auf den Saum des wachsenden Myzels löst keine Sklerotienbildung an den überschwemmten Teilen aus; im weiteren Verlaufe des Wachstums bildet *Botrytis* von dieser Stelle bis zum Rande der Kulturschale nur reichlicher Sklerotien, da ihm mehr Nährstoffe zur Verfügung stehen.

Dafür, daß spezifische Stoffwechselprodukte das Wachstum der *Botrytis* in bestimmter Weise beeinflussen können, sprechen höchstens einige Versuche, die im folgenden kurz geschildert werden mögen. Quantitative Impfungen, d. h. Impfungen, bei denen stets gleiche Mengen Sporen ausgesät wurden, habe ich nicht ausgeführt, jedoch stets ungefähr gleiche Mengen zur Impfung verwandt. An der Impfstelle entstand stets ein ansehnlicher Konidienbüschel. Deshalb habe ich die Menge der Sporen bei der Aussaat variiert. Der Büschel wurde bei größerer Aussaatsmenge erheblicher. Die Frage war nun, wie sich die Verhältnisse gestalten würden, wenn eine sehr große Anzahl von Sporen ausgesät wurden; ich habe dies auf zwei Arten ausgeführt: erstens, indem ich mittels eines Pinsels nur am Rande der Schale impfte, und zweitens dadurch, daß ich die ganze Schale völlig mit Sporen bepinselte. In beiden Fällen waren an den stark beimpften Stellen nur Konidien entstanden, d. h. also bei der Randbepinselung am Rande, bei der Aussaat auf der ganzen Platte in dichten Büscheln, die die ganze Kultur bedeckten; Sklerotien waren hier nicht entstanden.

Es besteht die Möglichkeit, daß bei der Keimung der Konidiensporen Stoffe gebildet werden, welche der Konidienbildung seitens des heranwachsenden Myzels förderlich sind. Doch kann ich auf Grund der geschilderten und mancher anderer im Anschluß an sie angestellten Versuche, die, wie zugegeben werden muß, auch andere Deutungen möglich erscheinen lassen, nur vermutungsweise mich hierüber äußern.

Einfacher und eindeutiger als die bisher geschilderten Versuche scheinen mir die Reaktionen, welche eintreten, wenn wachsendes Myzel auf Fremdkörper stößt. Eine Wachstumshemmung findet bereits statt, wenn das Myzel den Rand der Kulturschale erreicht; bei der Durchsicht der Abbildungen von Kulturen auf Kaliumnitrat-Dextroseagar fällt diese Sklerotienrandzone besonders auf. Eine Wachstumshemmung läßt sich nun leicht auch in der Kulturschale erzeugen, wenn man z. B. beliebig Glasstücke derart einlegt, daß ihr oberer Rand aus dem Agar herausragt. *Botrytis* wird hierdurch aufgehalten und bildet an ihnen zunächst Appressorien, und zwar kommt die Appressorienbildung auf allen Nährböden zustande, auf denen Sklerotien angelegt werden. Nach einigen Tagen sieht man dann, daß an dem hindernden Gegenstande dichte Sklerotien angelegt sind. Diese Versuche habe ich in mannigfacher Weise ausgeführt und Glasstücke verschiedenster Form und an verschiedenen Stellen auf-

gelegt, ich habe z. B. auch Sand- und Glassplitter benutzt; überall sah ich dann an diesen Stellen Sklerotien sich bilden. Wurden z. B. diese Gegenstände, die als Hindernis dienen sollten, in Ringform angelegt, so konnte ich auch eine Sklerotienringbildung auf diese Weise, die natürlich nicht mit der unter sonstigen Bedingungen erhaltenen Ringbildung das mindeste zu tun hat, erzielen. Es gelang mir sogar dadurch, daß ich die ganze Schale mit feinen Glassplittern bedeckte, im Hellen und bei hoher Sommertemperatur Konidienbildung zu unterdrücken und statt ihrer eine ausgedehnte Appressorienbildung zu erzielen.

Demnach bewirkt also Wachstumshemmung Sklerotienbildung und stehe ich nicht an, diese Hemmung mit der mittels Narkose erhaltenen Wachstumshemmung direkt zu vergleichen, insofern, daß sich die gleichen Produkte bilden.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich noch auf einen Versuch aufmerksam machen, bei dem ich auf die Kulturschale ringförmig eine Masse Glassplitter aufgetragen habe. Die Bedingungen, unter welchen die Kultur gehalten wurde, war für Konidienbildung günstig; gleichwohl blieben diese aus, vielmehr bildete sich an den Glassplitterhaufen eine Fülle von Appressorien aus, innerhalb des Ringes Sklerotien, entsprechend der durch die Fremdkörper bedingten Wachstumshemmung. Jenseits des Glassplitterringes fanden sich reichlich Konidien, ebenso an der Infektionsstelle. Da *Botrytis* auf diese mechanischen Reize, von welchen soeben die Rede war — z. B. am Rande der Petrischalen — infolge von Kontaktwirkungen Sklerotien wie auch Appressorien[1]) entwickelt, lag die Annahme nahe, daß die Bildung der letzteren in naher Beziehung zur Sklerotienentwicklung ständen, und vielleicht die Sklerotien sogar aus jenen hervorgingen. Die Beobachtung, daß Sklerotien auch da entstehen, wo die Bedingungen für Appressorien fehlen, z. B. mitten auf Agarplatten, die flottwachsendes Myzel enthalten, macht den angedeuteten Zusammenhang indessen wieder fraglich; überdies bleiben die Appressorien, die am Rande entstehen, auch nach Sklerotienbildung noch unverändert bestehen, ganz abgesehen davon, daß Sklerotien am Rande der Petrischale nicht nur unmittelbar an der Kontaktzone (Pilz und Glas), sondern auch in bescheidenem Abstand davon (2—3 mm) sichtbar werden.

II. Zusammenfassung und Schluß.

Bildung von Sklerotien: Fast auf allen Nährböden, welche dem Wachstum der Myzelien günstig sind, kann *Botrytis* auch Sklerotien bilden; es sind dies vor allem Kaliumnitrat-Dextroseagar mit 0,5 % Salpeter und 5 % Dextrosegehalt und den üblichen unorganischen Bestandteilen. Neben

[1]) Büsgen, Über einige Eigenschaften der Keimlinge parasitischer Pilze. Bot. Zeitg. 1893, Bd. LI, I. Abt., p. 53, 57.

diesem sind zur Sklerotienbildung bei Dextrose als C-Quelle vorwiegend noch Asparagin und Kalziumnitrat geeignet. Ammonsalze führen nicht zu Sklerotienanlage. Selbst salpetersaures Ammon, das neben Ammon-Stickstoff noch Stickstoff als Nitrat enthält, macht davon keine Ausnahme. Von Kohlenstoffquellen erwies sich außer Dextrose nur das Glyzerin, wenn auch in bedeutend geringerem Maße günstig.

Größe der Sklerotien: Die Größe der Sklerotien betrug bei Ernährung mit Salpeter und Dextrose etwa 5—8 mm Durchmesser; besonders kleine Sklerotien (2 mm Durchmesser) entstehen auf geringer Nährschicht, ferner bei hohem osmotischen Druck und bei starker Transpiration.

Zahl der Sklerotien: Die Zahl der Sklerotien ist in hohem Grade abhängig von der Ernährung. Salpeter bis 0,8 % steigert auf Kaliumnitrat-Dextroseagar, bis 0,3 % auf Pflaumensaftagar die Sklerotienmenge. Neben Salpeter scheint auch eine Steigerung von Dextrose eine Zunahme von Sklerotien herbeizuführen. Große Mengen Nähragar ergaben eine größere Anzahl von Sklerotien als geringe Mengen desselben Agars.

Anordnung der Sklerotien: Auf Kaliumnitrat-Dextroseagar entstehen die Sklerotien in diffuser Verteilung; auf Pflaumensaftagar sind sie regelmäßig zu Ringen vereinigt, deren Abstand vom Zentrum ca. 3 bis 3,5 cm r beträgt. Die Ringanordnung läßt sich auch auf Nährböden, die unter sonst üblichen Kulturbedingungen diffuse Anordnung der Sklerotien eintreten lassen, künstlich hervorrufen, dadurch, daß man die Azidität des Kaliumnitrat-Dextrosenährbodens steigert oder ihn besonders stark alkalisch macht. Die diffuse Verteilung der Sklerotien scheint hierbei einem besonderen optimalen Reaktionsgrad des Nährbodens zu entsprechen. Ob auch bei anderen Pilzen, für welche ringförmig angeordnete Sklerotiengruppen bekannt sind *(Sclerotinia sclerotiorum)*, gleichmäßige Verteilung der Sklerotien durch bessere Ernährung erreicht werden kann, bleibt zu untersuchen.

Experimentelle Lokalisation der Sklerotien: Legt man wachstumshemmende Fremdkörper in die Nährschicht ein, so bilden sich vor ihnen Sklerotien. Zerschneidet man ein Myzel in tangentialer Richtung, so entstehen wiederum an dem Wundrand Sklerotien. Dieselben bilden sich in ringförmiger Anordnung, wenn man wachsendes Myzel narkotisiert (Äther, Chloroform, Kampfer, Petroläther). Am Saum des wachsenden Myzels entstehen Verzweigungen der Hyphen und später Sklerotien. Ähnlich wirken Dämpfe von Osmiumsäure und Formalin. Läßt man Myzel von *Botrytis* abwechselnd über dicke und dünne Nährstoffschichten wachsen, so bilden sich über den dünnen Nährbodenschichten Sklerotien — offenbar als Wirkung der Nährstoffentziehung. Durch den Wechsel zwischen Licht- und Dunkelheit bzw. starker und schwacher Transpiration lokal Sklerotienbildung zu veranlassen, gelang nicht; hierin steht *Botrytis cinerea* im Gegensatz zu *Sclerotinia fructigena*, welche Molz untersucht hat.

Bildung der Konidien: Konidien entstehen stets reichlich bei energischer Transpiration, bei Kultur auf osmotisch stark wirksamen Lösungen (Kochsalz, Salpeter) sowie auf Sandkulturen (feiner Seesand, durchtränkt mit Pflaumensaft). Eine auffallende Lokalisation der Konidienbildung liegt vor, wenn gerade an der Impfstelle ein dichter Konidienbüschel entsteht. Willkürliche Lokalisation der Konidienbildung erreicht man durch ungleiche Verteilung der Transpirationsverhältnisse: auf halb bedeckten Kulturschalen bildet *Botrytis* an den unbedeckten Stellen Konidien; auf Schalen mit perforiertem Deckel bilden sich die Konidien an der unbedeckten Stelle unter dem Loch des Deckels. Denselben Prinzipien entspricht es, wenn einseitige Erwärmung der Kulturschalen die Konidienbildung einseitig fördert. In der Dunkelheit entstehen wenig Konidien, im blauen Licht reichlich. Rotes Licht wirkt ähnlich wie Dunkelheit.

Korrelation zwischen Sklerotien- und Konidienbildung: Stets, wenn reichliche Konidien gebildet werden, bleibt die Sklerotienbildung zurück und wenn keine Konidien gebildet werden, so sind viele Sklerotien zu erwarten. Im blauen Licht entstehen also wenig Sklerotien; in Dunkelheit sehr viel. In unbedeckten und daher stark transpirierenden Kulturen ist die Sklerotienbildung spärlich; stehen die Kulturen in feuchter Luft, so bilden sich zahlreiche Sklerotien.

Bildung der Appressorien: Appressorien entstehen auf allen Nährböden, auf welchen Sklerotien gebildet werden. Ihre Bildung wird befördert durch Einlegung wachstumshemmender Fremdkörper: auf Sandkulturen entstehen mehr Appressorien als auf gelatinierenden Böden; auch am Rand einer Schalenkultur entstehen sie und eine lokale reichliche Bildung von Appressorien beobachtet man z. B. nach Einstreuen von Glassplittern und dergleichen.

Korrelation zwischen der Bildung von Appressorien und Konidien: Konidienbildung wird unterdrückt, wenn man lokal die Bildung der Appressorien fördert (siehe vorigen Abschnitt).

Separat-Abdruck aus Annales Mycologici, Jahrg. 1909, Bd. VII, p. 19—44.

Lebenslauf.

Am 18. Juni 1879 wurde ich als Sohn des Oberlehrers Professor Dr. E. Reidemeister zu Magdeburg geboren. Im evangelischen Glauben erzogen, besuchte ich von Oktober 1885 bis Oktober 1888 die Vorbereitungsschule, vom Oktober 1888 bis 1897 das Realgymnasium zu Magdeburg, das ich mit dem Zeugnis der Reife verließ. Vom Oktober 1897 bis September 1898 genügte ich meiner Dienstpflicht als Einjährig-Freiwilliger und bezog darauf die Universität Leipzig. Im November 1901 ging ich an die Universität Halle-Wittenberg und bestand hier 1902 das Verbandsexamen. Zum 1. April 1903 nahm ich eine Stelle als Assistent an einem öffentlichen Laboratorium in Magdeburg an und unterzog mich von hier der Vorprüfung für Nahrungsmittelchemiker in Halle 1904. Zur Ausbildung als Nahrungsmittelchemiker ging ich im November 1904 nach Halle zurück, arbeitete zunächst in dem Universitäts-Laboratorium für Nahrungsmittelchemie, dann als Assistent am hygienischen Institut der Universität und absolvierte 1907 das Staatsexamen für Nahrungsmittelchemiker. Von November 1907 bis zum 1. Februar 1909 war ich in der bakteriologischen Abteilung der agrik.-chem. Versuchsstation zu Halle als Assistent tätig. Zurzeit bin ich Assistent an dem Institut der Stadt Berlin für gewerbliche und hygienische Zwecke.

Ich habe Vorlesungen gehört und an Übungen teilgenommen bei folgenden Herren Professoren und Dozenten:

Leipzig: Drude, Knoblauch, Wislicenus, Zirkel.

Halle: Bauch, Baumert, Dorn, Ebbinghaus, Fränkel, Klebs, Küster, Noll, Volhard.

Meinen verehrten Herren Lehrern möchte ich auch an dieser Stelle meinen ehrerbietigsten Dank aussprechen.